

1. Streszczenie

Stan przedrzucawkowy (preeclampsia, *ang.*: *preeclampsia*; PE) to choroba o złożonym podłożu i skomplikowanej patogenezie, która do chwili obecnej nie została w pełni poznana. Najprawdopodobniej centralną rolę w mechanizmie rozwoju PE odgrywa łożysko, które w stanie patologii produkuje szereg związków m.in. cząsteczki antyangiogenne, czynniki zapalne czy tzw. „placental debris”, powstałe w wyniku apoptozy jego komórek. Cząsteczki te są uwalniane do krwioobiegu matki gdzie uszkodzają śródbłonek naczyń, prowadząc do rozwoju nadciśnienia. W ostatnich latach coraz częściej wśród łożyskowo- pochodnych czynników wymienia się również hormony, których, nieadekwatna do potrzeb fizjologicznych rozwijającej się ciąży, sekrecja może prowadzić do stanów patologicznych, w tym do rozwoju preeklampsji. Jedną z takich endokrynnych cząsteczek o potencjalnym znaczeniu dla rozwoju ciąży jest chromogranina A (CgA).

Analiza piśmiennictwa naukowego poprzedzająca rozpoczęcie pracy eksperymentalnej zrealizowanej w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej wykazała, że wedle dotychczasowej wiedzy synteza CgA odbywa się głównie w komórkach chromochłonnych nadnerczy. Jedyne pojedyncze doniesienia sugerowały również jej łożyskowe pochodzenie. Zgodnie z dostępnymi danymi literaturowymi CgA i peptydy powstałe z jej cięcia enzymatycznego (np. katestatyna (CST)) związane są z regulacją przebiegu angiogenezy, apoptozy oraz biorą udział w regulacji ciśnienia krwi. Z uwagi na fakt, iż procesy te są silnie powiązane z patomechanizmem zjawiska PE, można było przypuszczać, iż istnieje związek pomiędzy łożyskową produkcją CgA i być może jej pochodnymi peptydowymi, a zjawiskiem preeklampsji.

Głównym celem pracy doktorskiej było zbadanie związku chromograniny A i jej pochodnych peptydowych, z rozwojem zjawiska preeklampsji. Przegląd istniejącej literatury oraz dostępnych baz danych pozwolił mi na sformułowanie hipotezy roboczej, która zakładała, że nieprawidłowa łożyskowa produkcja chromograniny A, lub jej pochodnych peptydowych, może mieć związek z rozwojem stanu przedrzucawkowego.

W celu jej weryfikacji zaplanowałam szereg eksperymentów, których realizację można podzielić na dwa etapy. W pierwszym etapie, przeprowadzonym na materiale łożyskowym pobranym w trakcie porodu od kobiet, które rozwinęły PE i od kobiet których ciąża przebiegała bez komplikacji, wykazałam, iż komórki łożyska poza syntezą chromograniny A produkują również jej pochodne peptydowe, w tym katestatynę (CST), która uważana jest

za peptyd o działaniu protekcyjnym, powiązany m.in. z nadciśnieniem. Zaobserwowałam także, iż produkcja CST jest obniżona w łożyskach pochodzących z ciąż powikłanych PE. W drugim etapie badań w oparciu o dwie komercyjnie dostępne trofoblastyczne linie komórkowe (HTR8/SVneo oraz BeWo) zaproponowałam model *in vitro* zjawiska preeklampsji. W badaniach tych udowodniłam, iż komórki linii trofoblastycznych mają zdolność

syntezy chromograniny A i przeprowadzenia jej enzymatycznego trawienia. Wykazałam także, że produkt degradacji CgA - katestatyna jest wydzielana do środowiska zewnątrzkomórkowego, co oznacza, że może być również uwalniana do krwioobiegu matki. Dodatkowo zaobserwowałam, iż istnieje zależność pomiędzy trofoblastyczną ekspresją genu kodującego chromograninę A oraz spadkiem pozakomórkowej sekrecji jej pochodnej peptydowej – katestatyny, w warunkach hodowlanych imitujących środowisko preeklampcyjne. Obserwacje te były spójne z wynikami uzyskanymi w trakcie realizacji etapu I w oparciu o materiał łożyskowy pozyskany od kobiet zdrowych i z PE, gdzie stężenie katestatyny w łożyskach pochodzących od ciąż powikłanych PE było obniżone w stosunku do ciąż prawidłowych.

Co więcej wykazałam ujemną korelację pomiędzy stężeniem katestatyny uwalnianej przez komórki trofoblastu do środowiska a ich indeksem apoptotycznym. Biorąc po uwagę fakt, iż stężenie katestatyny jest obniżone w łożyskach pochodzących z ciąż powikłanych stanem przedrzucawkowym oraz, że zgodnie z danymi literaturowymi nasilona apoptoza jest charakterystycznym zjawiskiem zachodzącym w tkance łożyskowej pobranej od pacjentek z PE, można uznać, iż mój model *in vitro* zjawiska preeklampsji jest użyteczny z punktu widzenia prowadzenia dalszych badań nad poznaniem molekularnego zjawiska PE.

Podsumowując, komórki trofoblastyczne mają zdolność do syntezy i degradacji chromograniny A oraz do sekrecji jej pochodnych peptydowych (m.in. katestatyny) do środowiska zewnątrzkomórkowego, w tym najprawdopodobniej do krwioobiegu matki. Wykazałam, że w stanie preeklampsji sekrecja katestatyny, CgA-pochodnej o właściwościach wspierających procesy wazodylatacyjne, jest obniżona, co może przyczyniać się m.in. do generacji nadciśnienia i tym samym tłumaczyć znaczenie tej cząsteczki w molekularnym mechanizmie rozwoju zjawiska preeklampsji.